



Open Archive TOULOUSE Archive Ouverte (OATAO)

OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible.

This is an author-deposited version published in : <http://oatao.univ-toulouse.fr/Eprints> ID : 4582

To cite this version :

MAREL, Juliette. *Utilisation de l'alphaxalone en anesthésie générale chez le chien*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Toulouse 3, 2010, 50 p.

Any correspondance concerning this service should be sent to the repository administrator: staff-oatao@inp-toulouse.fr.



ANNEE 2010 THESE : 2010 - TOU 3 - 4069

UTILISATION DE L'APHAXALONE EN ANESTHESIE GENERALE CHEZ LE CHIEN

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

présentée et soutenue publiquement en 2010
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse

par

MAREL Juliette, Marie
Née, le 13 mai 1984 à TRAPPES (78)

Directeur de thèse : Mr. le Professeur Patrick VERWAERDE

JURY

BIBLIOTHEQUE ENVT



D810 0008499 6

PRESIDENT :
M. Christian VIRENQUE

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSEESSEUR :
M. Patrick VERWAERDE
Mme Nathalie PRYIMENKO

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Enseignement agricole
Formations grandeur nature



**Ministère de l'Agriculture et de la Pêche
ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE**

Directeur : M. A. MILON

Directeurs honoraires M. G. VAN HAVERBEKE.
M. P. DESNOYERS

Professeurs honoraires :

M. L. FALIU	M. J. CHANTAL	M. BODIN ROZAT DE MENDRES NEGRE
M. C. LABIE	M. JF. GUELF	M. DORCHIES
M. C. PAVAU	M. EECKHOUTTE	
M. F. LESCURE	M. D.GRIESS	
M. A. RICO	M. CABANIE	
M. A. CAZIEUX	M. DARRE	
Mme V. BURGAT	M. HENROTEAUX	

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

M. **BRAUN Jean-Pierre**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
M. **EUZEBY Jean**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
M. **TOUTAIN Pierre-Louis**, *Physiologie et Thérapeutique*

PROFESSEURS 1^o CLASSE

M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **CLAUW Martine**, *Pharmacie-Toxicologie*
M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
M. **CORPET Denis**, *Science de l'Aliment et Technologies dans les Industries agro-alimentaires*
M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie Pathologique*
M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
M. **MARTINEAU Guy**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
M. **REGNIER Alain**, *Physiopathologie oculaire*
M. **SAUTET Jean**, *Anatomie*
M. **SCHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

PROFESSEURS 2^o CLASSE

Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*
Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la Reproduction*
M. **DUCOS Alain**, *Zootéchnie*
M. **DUCOS DE LAHITTE Jacques**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la Reproduction*
M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*
M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*
M. **SANS Pierre**, *Productions animales*
Mme **TRUMEL Catherine**, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*

PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*
M **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*
M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)

M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
Mme **BENNIS-BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*
M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
Mlle **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
Mme **BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
Mlle **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
Mlle **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie*
M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
Mlle **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. **DOSSIN Olivier**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
Mlle **FERRAN Aude**, *Physiologie*
M. **GUERIN Jean-Luc**, *Elevage et Santé avicoles et cunicoles*
M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
Mlle **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologique des animaux de rente*
Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des Ruminants*
M. **MAGNE Laurent**, *Urgences soins-intensifs*
M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
M **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants.*
Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*
M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*
Mlle **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*
Mme **TROGELER-MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation*
M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie (disponibilité à cpt du 01/09/10)*
M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*

MAITRES DE CONFERENCES et AGENTS CONTRACTUELS

M. **IRUBETAGOYENA Iban**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
M. **SOUBIES Sébastien**, *Microbiologie et infectiologie*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophtalmologie*
Mlle **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction*
Mlle **PASTOR Mélanie**, *Médecine Interne*
M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales*
Mlle **TREVENNEC Karen**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*
M **VERSET Michaël**, *Chirurgie des animaux de compagnie*

REMERCIEMENTS

A notre président de thèse,

Monsieur le Professeur Christian VIRENQUE

Professeur des Universités.

Praticien hospitalier.

Anesthésiologie

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury.

Hommages respectueux.

A notre jury de thèse,

Monsieur le Professeur Patrick Verwaerde

De l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,

Anesthésie Réanimation Urgences

Qui a accepté de nous guider et de nous conseiller dans la réalisation de ce travail. Si ce document couronne le succès de notre collaboration il en signe également nos premiers pas vers le monde de l'anesthésie réanimation.

Qu'il trouve au travers de ces lignes l'expression de ma plus profonde gratitude.

Madame le Professeur Nathalie Priymenko

De l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,

Alimentation

Qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de thèse.

Sincères remerciements.

Mademoiselle Séverine DUMOND

Assistante spécialisée vétérinaire à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. Sans qui ce travail n'aurait pas pu aboutir et qui nous a généreusement accordé de son temps lors de la réalisation des manipulations.

Sincères remerciements

A mes parents, pour votre soutien dans tous les domaines à toutes heures du jour et de la nuit.

A ma sœur, qui m'a parfois été d'une grande aide et que j'aime même si je ne lui dis que trop rarement.

A ma famille.

A Jérôme, pour ce qu'on a vécu et ce qu'on a à vivre.

A Lucie, pour tous ces moments passés ensemble. Joies, doutes et galères de frigo qui ont ponctué nos années de prépa. Bonne continuation toi qui a choisi la voie mystérieuse de la recherche.

A Julie ma partenaire de colle adepte des spécialités de Quiberon et Joséphine sur qui on peut toujours compter.

A Karine, Coralie, Morgane et Elise sans qui ces années à Toulouse n'auraient pas été les mêmes. A Julien, Pierre, Gazou et Ivy qui n'ont jamais eu peur de refaire le monde, une rue après l'autre.

A Malou (et maintenant Nico), toujours en retard, entre deux vols pour les quatre coins du monde. Tu ne m'as jamais vu faire du footing, mais toi a tu déjà passé plus de deux jours au même endroit ?

A nos amis les supaéros, aux membres de la branliste et surtout Marco, Gen (et Marie), Pierro, Ganzi, Réchou. Amateurs de boule magique, de vélib et de cap's j'apprécie toujours autant les moments passés ensemble.

A mes docteurs, Michey, Pierrou, Jarek, JT, Milouze, Ange et tous les autres qui ont accompagné notre entrée dans l'école.

A PO, Se, Prot, Ariane des alforiens qui portent le rouge et blanc pas si mal.

Aux vétos qui m'ont prise en stage. Sandrine avec qui j'espère pouvoir partager encore de bon moment ; Bernard et Lionel toujours prêts à dépanner la stagiaire perdue au fin fond du Jura ; André qui m'a appris les bases de la clientèle ; Marie Anne avec qui j'ai fait le tour de l'Ecosse et de l'anatomopathologie ; Jean pour qui traverser les pistes de ski avec des vacutainers est tout à fait habituel ; Sébastien qui a bien failli oublier sa stagiaire dans les frigos. J'ai beaucoup appris grâce à vous, j'espère un jour prendre la suite.

A Ptite Ju qui a découvert qu'avoir le dessus d'un deluxe n'est qu'une histoire de volonté. A Stéphane, kiki, qui n'a pas son pareil pour démêler les intestins que j'emmêle. Aux vétos du CHV des Cordeliers et à toute l'équipe, une année pas toujours facile mais que je ne regrette pas. A Christophe, pour les réunions décisionnelles café-courette d'anesthésie.

Il est important de ne jamais arrêter de poser des questions

Table des matières

INTRODUCTION.....	- 15 -
PREMIERE PARTIE : ETUDE GENERALE	- 17 -
I. Historique.....	- 17 -
II. Données physico-chimiques de l’alphaxalone	- 17 -
2.1 Principe actif.....	- 17 -
2.2 Formulation	- 18 -
2.3 L’excipient ou HCPB	- 18 -
III. Propriétés pharmacologiques de l’alphaxalone	- 20 -
4.1 Données pharmacodynamiques	- 20 -
4.2 Caractéristiques pharmacocinétiques	- 23 -
3.3 Distribution.....	- 24 -
3.4 Métabolisme	- 24 -
3.5 Activité anesthésique.....	- 25 -
3.6 Effets indésirables	- 29 -
3.7 Données de toxicologie	- 30 -
IV. Influences des facteurs extrinsèques à l’anesthésie	- 31 -
4.1 Voie d’administration.....	- 31 -
4.2 Facteurs individuels (gestation, âge, espèce, stade ASA)	- 31 -
DEUXIEME PARTIE : ETUDE CLINIQUE DE L’ALPHAXALONE DANS L’ANESTHESIE DU CHIEN.....	- 33 -
I. Problématique et objectifs	- 33 -
II. Matériels et méthodes	- 33 -
L’étude a été conçue et réalisée selon une approche prospective longitudinale. Conformément au protocole d’étude établi, chaque chien inclus est son propre témoin.	- 33 -
3.1 Présentation de la population étudiée.....	- 34 -
3.2 Procédure expérimentale utilisée chez les chiens inclus	- 34 -
3.3 Analyses statistiques des données	- 35 -
3.4 Paramètres biologiques étudiés	- 36 -
III. Résultats	- 37 -
3.1 Description générale de la population de l’étude	- 37 -
3.2 Observations cliniques	- 37 -
3.3 Effets de l’acépromazine sur les analytes sanguins.....	- 37 -

3.4 Effets de l’alphaxalone sur les données sanguines	- 38 -
3.5 Effets de la combinaison ACP/alphaxalone sur les données sanguines	- 39 -
IV. Discussion des résultats et perspectives	- 42 -
Bibliographie	- 47 -

Tableaux et figures

Tableau 1 : Etude comparative concernant l'induction de chiens à l'alphaxalone. Muir W. (18)	- 26 -
Tableau 2 : Fréquences Cardiaques au cours du temps chez le chien ayant reçu de l'alphaxalone Muir W. (18)	- 29 -
Tableau 3 : Durée de l'apnée chez des chiens induits à différentes doses d'alphaxalone (34)	- 30 -
Tableau 4 : Influence de l'acépromazine sur les analytes étudiés	- 38 -
Tableau 5 : Influence de l'alphaxalone sur les analytes étudiés	- 39 -
Tableau 6 : Influence de la combinaison ACP/alphaxalone sur les analytes étudiés	- 40 -
Figure 1 : Molécule de 3 hydroxypregnane – 11,20 – dione	- 17 -
Figure 2 : Molécule d'hydroxyl β cyclodextrine	- 19 -
Figure 3 : Hétérogénéité de structure du récepteur GABA _A	- 21 -
Figure 4 : Fonctionnement du récepteur GABA _A	- 22 -
Figure 5 : Concentration plasmatique de l'alphaxalone en fonction du temps après l'administration d'Alfaxan® à 2 et 10 mg/kg chez le chien	- 23 -
Figure 6 : Entrée des afférences douloureuses dans la corne postérieure de la moelle épinière (Muir)	- 27 -
Figure 7 : Réalisation des prélèvements sanguins à T1, T2 et T3	- 35 -
Figure 8 : Variation de l'albumine après administration d'ACP (2), puis d'Alphaxalone (3)	- 40 -
Figure 9 : Variation de l'albumine après administration d'ACP (2), puis d'Alphaxalone (3)	- 41 -
Figure 10 : Variation de l'hématocrite après administration d'ACP (2), puis d'Alphaxalone (3)	- 41 -

INTRODUCTION

Avant l'arrivée de l'anesthésie toute intervention chirurgicale apparaissait comme une perspective inquiétante. Les patients s'exposant généralement à des douleurs intenses et morbides. La mortalité est alors très élevée.

Dès lors dans l'histoire, la volonté des médecins de posséder des substances antalgique ou hypnotique ne s'est jamais démentie. Pour nombre d'entre elles pourtant l'efficacité serait à rechercher plutôt dans le domaine du spiritisme ou de l'ésotérisme.

A Rome par exemple, Celse (en 15 av JC), dans son "De Arte Medica" décrit l'action narcotique de la mandragore, comme Galien (131-205 av JC) Plinie l'Ancien (23-79 av JC), dans son "Histoire Naturelle", précise que le vin de mandragore, entraîne une action soporifique, et engourdit la sensibilité, et la recommande avant les ponctions et incisions. En terme d'anesthésie intraveineuse, les premiers essais de 1874 sont à attribuer au professeur Cyprien Oré chirurgien de l'hôpital Saint André de Bordeaux.

Il injecte en 2 fois dans la veine basilique du chloral dilué, chez un homme de 52 ans atteint de tétanos en phase aigue: « aussitôt le patient tombe dans un sommeil tranquille. La raideur musculaire disparaît et la respiration devient calme et régulière ». Il en profite pour faire un parage de la plaie : « l'anesthésie était si complète que j'ai pu explorer, à mon gré, le doigt écrasé, alors qu'avant l'injection, la moindre pression y occasionnait les douleurs les plus vives. ». Le sommeil dura 11h. Au total, Oré fit 4 injections. Le patient, guéri, rentra chez lui le 28 février.

Les commentaires du professeur après cette intervention sont tels qu'il conclut, avec un optimisme sans doute un peu rapide, à l'innocuité des injections intraveineuses de chloral « sans la plus légère trace de phlébite » avec une insensibilité qualifiée d'absolue, rapide et longue, si « le produit est mis immédiatement en contact avec le sang ».

Aujourd'hui, si des progrès considérables ont été accomplis depuis la première anesthésie, il n'existe pas de molécule permettant d'atteindre seule les objectifs cliniques d'une anesthésie générale moderne à savoir une perte de conscience ou narcose, une suppression de la douleur ou analgésie, une myorésolution et une protection neurovégétative tout en assurant un réveil rapide sans effets secondaires.

En effet si l'anesthésie générale fixe permet actuellement d'approcher ces conditions, elle fait souvent appel à la composition d'un « cocktail médicamenteux » palliant les insuffisances des molécules utilisées séparément.

Le vétérinaire anesthésiste-réanimateur recherche un produit d'utilisation simple, produisant une induction rapide et douce, d'élimination rapide et surtout possédant une marge de sécurité importante.

L'utilisation de molécules comme l'alphadione semblait pouvoir offrir de telles qualités, cependant les excipients utilisés alors (à base d'huile de Ricin) ont été impliqués dans la survenue d'incidents allergiques sévères causes de son retrait du marché en 1985. A l'époque, les autorités ne le recommandaient pas chez le chien à cause de la libération

massive d'histamine que provoquait fréquemment le Crémaphor EL (1) excipient du SaffanND.

Diverses recherches se sont poursuivies s'orientant vers l'utilisation de l'alphaxalone seule et d'un excipient mieux toléré.

Ainsi, des recherches menées (2), (3) visant à dissiper cet effet anaphylactique ont permis d'identifier un autre agent solubilisant capable de remplacer le Crémaphor-EL.

L'utilisation proposée d'hydroxypropyl cyclodextrine, présent dans la formulation de l'AlfaxanND, permet d'avoir un produit d'hydrosolubilité marquée utilisable comme anesthésique injectable sans avoir les risques de relargage d'histamine précédemment décrits.

Ce médicament, qui dans cette forme galénique particulière a fait l'objet d'une autorisation de mise sur le marché en 2008, constitue le centre d'intérêt de ce travail. Après avoir réalisé une rapide synthèse des données pharmacologiques disponibles, nous envisagerons dans un deuxième temps l'étude des conséquences d'une administration d'alphaxalone sur les paramètres biochimiques plasmatiques du chien.

PREMIERE PARTIE : ETUDE GENERALE

I. Historique

L'utilisation de molécules stéroïdes neuroactives possédant des propriétés d'anesthésiques généraux prend depuis quelques années une dimension grandissante.

Le concept d'anesthésie par utilisation de stéroïdes n'a été mis en place concrètement qu'en 1965 grâce aux travaux d'Altkinson puis de Phillips en 1974. L'origine de ces développements repose sur les observations réalisées par Cashing et Moraveck en 1927 qui avaient conclu qu'une suspension colloïde de cholestérol pouvait induire une anesthésie suffisante pour réaliser une chirurgie. (4)

L'étude des propriétés pharmacologiques de la 21-hydroxypregnanedione sodium succinate, réalisée en 1955 sur des rongeurs et lagomorphes démontre l'existence d'une grande sécurité d'utilisation et de dépressions respiratoire et cardiaque minimales. La conclusion étant que les caractéristiques de cette molécule à l'action gabaergique, l'hydroxydione la rendait plus appropriée que certains barbituriques dans le cadre d'anesthésies flash ou d'anesthésies générales. (5)

II. Données physico-chimiques de l'alphaxalone

2.1 Principe actif

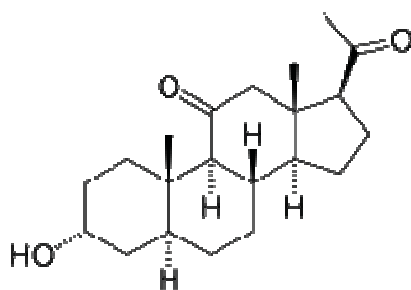


Figure 1 : Molécule de 3 hydroxypregnane – 11,20 – dione

L'alphaxalone ($C_{21}H_{32}O_3$) est un anesthésique de poids moléculaire 332.48 (g/mol). (6) La solution possède un pH de 6,5 – 7,0.

2.2 Formulation

Alfaxan® est une solution hydrosoluble d'alphaxalone (excipient HPBCD), une molécule stéroïdienne ayant une structure proche de la progestérone. Il se présente sous la forme d'un liquide incolore et inodore de pH neutre.

Alfaxan est une solution aqueuse à 1% (10 mg/ml) rendue hydrosoluble grâce à l'HCPB.

La solution finale ne contient pas d'antibiotiques, ni de conservateur impliquant une utilisation rapide après ouverture (7 jours à 4°C).

2.3 L'excipient ou HCPB

Lors de sa commercialisation sous le nom de Saffan® l'alphaxalone était combiné à un autre stéroïde l'alfadolone. Les deux agents étaient combinés à un dérivé d'huile de ricin. Cette formulation pouvait induire des réactions allergiques chez 70% des individus. Il a été observé un relargage histaminique et des réactions anaphylactiques chez le chien et une hyperémie généralisée chez le chat. (7), (8)

La molécule de 2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin ou HCPB (parfois notée CD) est un produit de haute pureté issu de la dégradation bactérienne de l'amidon (9). Sa capacité de solubilisation est 50 fois supérieure à celle de la β -cyclodextrine. Cet accroissement de solubilité évite les nombreux effets toxiques des β -cyclodextrines seules (3), (10).

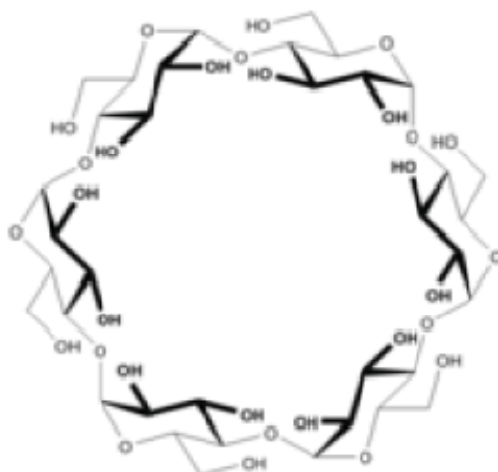


Figure 2 : Molécule d'hydroxyl β cyclodextrine

Cette molécule dérivée de l'amylase possède une forme de cône avec un centre hydrophobe et une périphérie hydrophile. L'alphaxalone se retrouve piégée au centre de l'HCPB augmentant ainsi sa solubilisation d'un facteur 375. (8) Aucune toxicité aigüe après administration orale, intrapéritonéale, intraveineuse, topique ou intracérébrale n'a été observée. (11) (12) (13)

Pour une solution à 50 mg/mL l'index d'irritation reste inférieur à 0,5/5 (0,38 +/- 0,24) (14). D'après les données publiées même après réalisation d'injection intramusculaire d'une solution à 10% d'HPCD pendant 15 jours aucun phénomène d'irritation au site d'injection n'a été observé (15).

Les données physico-chimiques et de stabilité sont :

Date d'expiration (recommandée) : minimum 1 an à compter de la date d'achat

Degré de substitution 4 à 8

Rotation spécifique + 140 à 145 °

La teneur en eau < 3.0%

Les métaux lourds < 1 ppm

Des résidus sur l'allumage < 0.1%

Assay > 97,0%

CFU / gramme < 100

Conditions de conservation (recommandées) : stockage dans un endroit sec et frais, à 4 ° C dans un local ne dépassant pas 30°C.

Les caractéristiques de cet excipient rendent possible la préparation de solutions aqueuses stables de cholestérol sans phénomène de cristallisation (16). La 2-HP-bêta-CD a été initialement développée en tant que transporteur de drogue parentérale en raison de sa faible activité hémolytique et caractère intrinsèquement amorphe. (10)

Les solutions finales obtenues peuvent donc être utilisées pour des administrations parentérales. (11)

Des études de l'HPCD administrée en intraveineux à des chiens pendant 90 jours à la dose maximale de 400 mg/kg révèlent l'existence d'une excellente tolérance jusqu'à des doses de 100 mg/kg, sans effets tératogène ou d'infertilité. A plus de 400 mg/kg des lésions histopathologiques réversibles ont été observées sur les poumons, les voies urinaires et les reins (16). Cette même étude de toxicologie montre que la molécule est peu distribuée dans les tissus sauf dans les reins et dans les urines.

La formulation actuelle de l'alphaxalone faisant appel à cet excipient, commercialisée sous le nom d'AlfaxanND est dépourvue d'effet de relargage histaminique. (17), (18), (7)

III. Propriétés pharmacologiques de l'alphaxalone

4.1 Données pharmacodynamiques

L'alphaxalone est une molécule stéroïde neuroactive possédant les propriétés hypnotiques d'un anesthésique général. Ses effets pharmacologiques ne sont pas encore totalement élucidés. Elle possède une action centrale, hypnotique résultant de son interaction avec les récepteurs GABA des neurones modulateurs. L'alphaxalone module le transport des ions chlorures au niveau de la membrane cellulaire neuronale. Par sa liaison aux récepteurs GABA_A (gamma-aminobutyric acid type A) de la surface cellulaire, l'alphaxalone induit une hyperpolarisation membranaire à l'origine d'une réduction de la neurotransmission. .

L'alphaxalone a des propriétés analgésiques limitées aux doses cliniques. (15)

Les récepteurs GABA_A appartiennent à la superfamille des récepteurs porogènes de surface.

- Le récepteur GABA_A est un membre de la famille des récepteurs-canaux ioniques. Il est sensible au muscimol (agoniste) ainsi qu'à la bicuculline et la picrotoxine (antagonistes). La fixation du GABA sur son site de reconnaissance provoque l'ouverture d'un canal chlore (Cl⁻), qui, laissant passer les ions Cl⁻, produit l'hyperpolarisation de la cellule cible. (19)

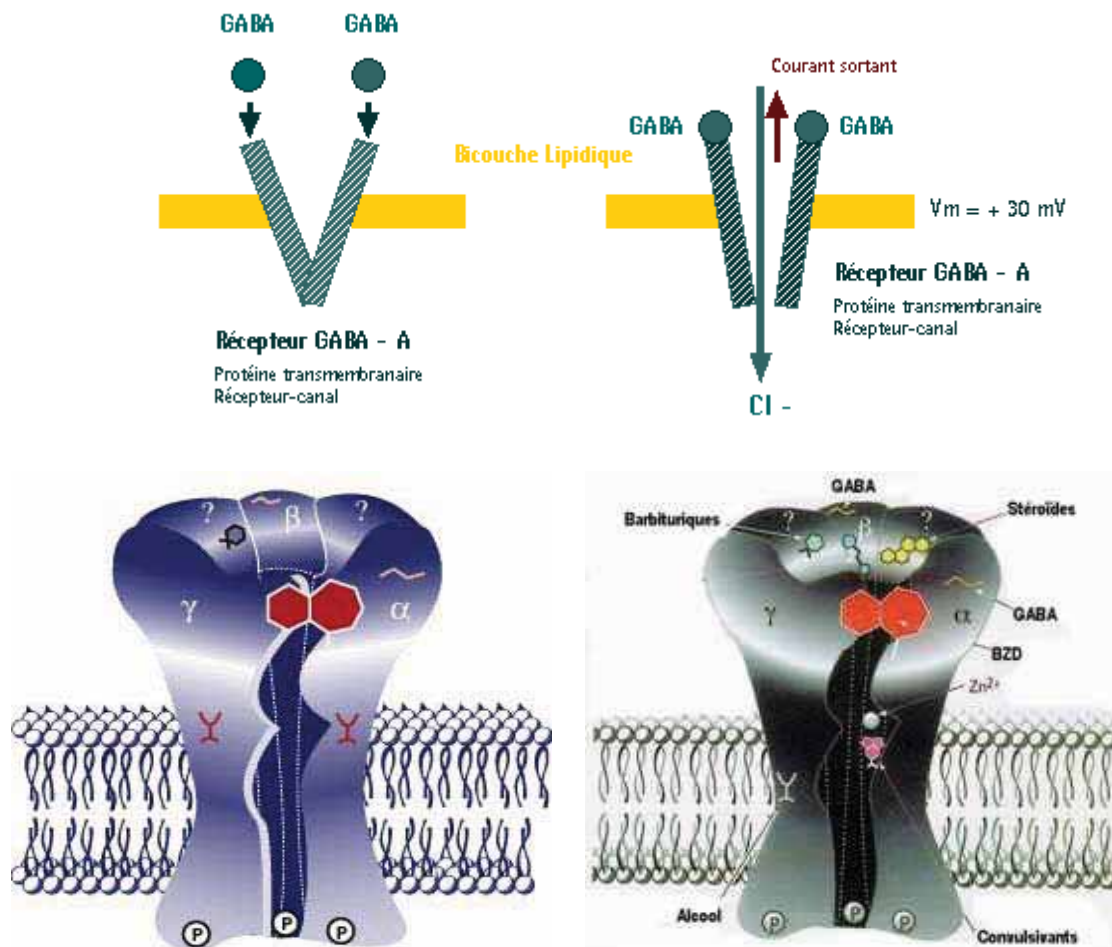


Figure 3 : Hétérogénéité de structure du récepteur GABA_A

Le récepteur GABA_A est une glycoprotéine transmembranaire formée de 4 sous-unités, alpha, bêta, gamma et delta. Il existe plusieurs types de récepteurs GABA_A, différents entre eux par certaines de leurs sous-unités. On distingue actuellement 6 sous-types de sous-unités alpha, 3 sous-types de sous-unités bêta, 3 sous-types de sous-unités gamma et 1 sous-type de sous-unités delta. Cette grande hétérogénéité de structure explique en partie l'hétérogénéité des effets pharmacologiques, qui restent encore mal connus. (20)

Modulations de la réponse GABAergique

Le récepteur GABA_A présente, en dehors des sites récepteurs au GABA, une variété d'autres sites récepteurs topographiquement distincts capables de reconnaître des substances pharmacologiquement actives, comme les benzodiazépines (BZDs) - les barbituriques - les neurostéroïdes les convulsivants. (21) Ces substances interagissent de manière allostérique avec les sites récepteurs au GABA et modulent la réponse GABA_A.

Les récepteurs GABA_A se répartissent différemment dans le cerveau :

- Les sites GABA_A sont retrouvés en concentration élevée dans le cortex cérébral, les noyaux thalamiques et la couche granulaire du cervelet. Ils sont majoritairement postsynaptiques : leur activation est responsable de potentiels postsynaptiques inhibiteurs.

Ainsi, la liaison du GABA sur ces récepteurs GABA_A entraîne une inhibition de la neurotransmission.

L'adjonction de neurostéroïdes au GABA potentialise l'effet du GABA - en augmentant la fréquence d'ouverture du canal Cl⁻.

- Le site récepteur au GABA serait situé dans le large domaine extra-cellulaire de la sous-unité de type bêta.
- L'expression transitoire des sous-unités alpha et bêta dans des cellules transfectées donne des récepteurs GABA_A fonctionnels, c'est à dire qui, en présence de GABA ou de ses agonistes, induisent un courant entrant Cl⁻ hyperpolarisant inhibiteur. Ce courant, bloqué par les antagonistes GABA_A, est potentialisé par les neurostéroïdes.



Figure 4 : Fonctionnement du récepteur GABA_A

Au travers de cet effet agoniste GABA, des stéroïdes de synthèse dits neuroactifs pourraient avoir aussi un intérêt dans le traitement de l'épilepsie, l'insomnie et l'anxiété. Les récepteurs aux barbituriques ainsi qu'à certaines hormones stéroïdes comme les dérivés de la progestérone potentialisent en effet la réponse du récepteur GABA_A à son agoniste physiologique. L'effet sédatif de la progestérone, après sa transformation en allopregestérone, serait expliqué par ce même mécanisme.

Un autre mécanisme impliquant les récepteurs nicotiniques est aussi proposé pour expliquer une partie des effets cliniques de l'alphaxalone. Ces récepteurs, situés dans le système nerveux autonome et sur la plaque motrice, participent à la transmission des influx nerveux moteurs. Or l'alphaxalone inhibe l'augmentation du calcium intracellulaire induite par la nicotine lorsqu'elle est fixée aux récepteurs nicotiniques. (22) Cette action pourrait notamment expliquer la myorelaxation périphérique observée.

Par ailleurs, il est établi que les récepteurs à la glycine modulent l'inhibition synaptique dans le système nerveux central. Ces récepteurs ont un rôle dans le contrôle moteur, le traitement des signaux sensoriels ainsi que la coordination des réflexes. (23) L'alphaxalone déplacerait l'antagoniste de la glycine lorsqu'elle est fixée sur ces récepteurs. Cependant aux doses injectées lors d'une anesthésie générale, cette activité resterait minimum. (24) (25)

A des doses supracliniques l'alphaxalone est en outre responsable d'une inhibition par compétition des transporteurs de la noradrénaline au niveau du système nerveux. (18)

A ce jour, l'ensemble de ces effets pharmacologiques permettent de comprendre au moins partiellement les effets cliniques observés lors d'administration d'alphaxalone.

4.2 Caractéristiques pharmacocinétiques

La pharmacocinétique de l'alphaxalone peut être largement influencée par les médicaments co-administrés.

L'étude menée par Ferré en 2006 permet de connaître le profil pharmacocinétique de l'alphaxalone au cours du temps après une administration intraveineuse.

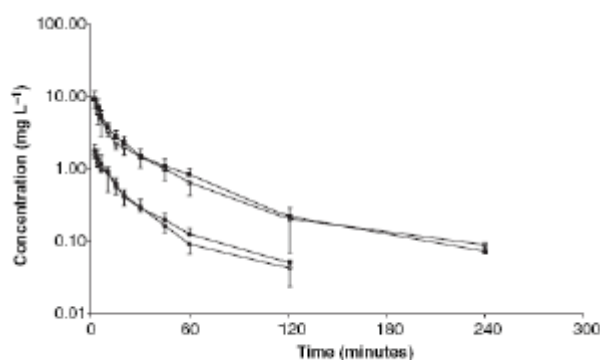


Figure 5 : Concentration plasmatique de l'alphaxalone en fonction du temps après l'administration d'Alfaxan® à 2 et 10 mg/kg chez le chien

Les concentrations maximales observées deux minutes après injection sont respectivement de 2,3 +/- 1,5 mg/L et de 9,4 +/- 2,3 mg/L. Le produit reste quantifiable par dosage jusqu'à deux heures après administration de 2 mg/kg et quatre heures après administration de 4 mg/kg. (17)

L'alphaxalone est métabolisée au niveau du foie. Les chiens forment cinq métabolites inactifs lors de la Phase I (cytochrome P450) de l'alphaxalone. Les métabolites de Phase II (conjugaison) observés sont des glucuronides d'alphaxalone.

La demi-vie d'élimination plasmatique moyenne terminale ($t_{1/2}$) de l'alphaxalone est d'environ 25 minutes pour une dose de 2 mg/kg.

La clairance plasmatique pour une dose de 2 mg/kg est de $59,4 \pm 12,9$ ml/kg/min.

L'élimination de l'alphaxalone chez les chiens et les chats montre une cinétique non linéaire.

(15)

Les métabolites de l'alphaxalone sont susceptibles d'être éliminées, par voies hépatique / fécale et rénale, de manière similaire aux autres espèces. (26)

3.3 Distribution

Du fait de son noyau stérol, l'alphaxalone possède des caractéristiques d'hydrophobie, et de liposolubilité. Son activité de stéroïde neuroactif, repose sur une distribution sanguine large et une liaison avec des protéines plasmatiques.

Les protéines concernées sont les protéines sériques notamment les SHBG (glycoprotéine servant au transport des stéroïdes sexuels) et l'albumine, issue du foie. (27)

La fixation se fait à hauteur de 20 à 40% environ.

Le volume de distribution après une injection unique aux doses thérapeutiques de 2 et 5 mg/kg d'alphaxalone chez le chien est de 2.4 L/kg. (17)

3.4 Métabolisme

3.4.1. *Biotransformation*

Rapidement après l'administration, l'alphaxalone est distribué dans le système nerveux central et médullaire. Il est ensuite métabolisé par le foie. Il semble que la glucuronoconjugaison joue un rôle important dans le métabolisme et l'excrétion de l'alphaxalone. Le métabolite majeur issu de cette biotransformation est le 2-alpha-hydroxyalfaxalone (28). Cette métabolisation rapide explique en partie la courte durée d'action et la récupération rapide du patient, observée après une administration unique.

3.4.2. *Elimination*

Si 20 à 40 % de l'alphaxalone administré sont fixés aux protéines sériques, 70% du composé se retrouve excrété par la bile, environ 3 heures après une administration

intraveineuse. Des métabolites de l'alphaxalone ont été détectés dans les urines et les matières fécales jusqu'à 5 jours après une administration unique. (28)

Il n'existe aucune preuve suggérant l'existence d'un stockage de la molécule dans le foie ou les reins, ainsi l'alphaxalone serait complètement éliminée quelques heures après son administration. De plus, des épreuves à doses répétées sur de courte période de temps démontrent qu'il n'y aurait pas de risque d'accumulation rénale.

L'élimination apparaît dose dépendante avec une cinétique non linéaire, c'est-à-dire que les paramètres pharmacocinétiques sont modifiés en fonction de la dose.

La demi-vie d'élimination plasmatique est de 24,0 +/- 1,9 minutes et de 37,4 +/- 1,6 minutes chez le chien pour des doses respectivement de 2 mg/kg et 10 mg/kg. La clairance plasmatique est de 59,4 +/- 12,9 mL/kg/min et de 52,9 +/- 12,8 mL/kg/min pour une dose respectivement de 2 mg/kg et 10 mg/kg. (17)

3.5 Activité anesthésique

3.5.1. *Puissance de l'anesthésie*

A une dose de 5 mg/kg, une perte centrale de la sensibilité est observée pendant 15 minutes. Le temps d'induction est rapide, compris entre 0,3 et 0,9 minutes. (17), (18) La réactivité au toe-pinch est négative durant 10 minutes post induction à 5 mg/kg et 15 minutes pour des doses de 9 mg/kg.

L'inconscience apparaît dès l'utilisation de doses proches de 1,5 à 2 mg/kg. L'induction à ces doses est décrite comme douce et progressive dans la plupart des études. (8) Un chien dans l'étude menée par Muir. W a présenté une phase d'excitation et d'incoordination après une administration d'alphaxalone en IV à la dose de 2 mg/kg. (18)

3.5.2. *Durée de la narcose*

Le délai d'apparition de l'inconscience est rapide et s'avère indépendant de la dose administrée (16), seule la durée et l'intensité de l'inconscience varient avec la dose.

En 2008, Muir W. (16) a comparé les temps d'induction ainsi que les délais permettant d'obtenir une possibilité d'intubation en fonction des doses d'alphaxalone administrées :

Doses (IV)	2 mg/kg	6 mg/kg	20 mg/kg
Qualités de l'induction	1,3 ± 0,5	1,0 ± 0,0	1,0 ± 0,0
Temps d'obtention de la position latérale (min)	0,9 ± 0,3	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,4
Temps pour obtenir la possibilité d'intubation (min)	0,7 ± 1,1	0,4 ± 0,4	0,6 ± 1,0

Tableau 1 : Etude comparative concernant l'induction de chiens à l'alphaxalone. Muir W. (18)

Dans cette étude, l'induction est notée comme suit :

- **score 1** : pas de signe externe d'excitation, obtention rapide d'un décubitus latéral, bonne myorelaxation, intubation facile moins de 60 secondes après la fin de l'injection
- **score 2** : légers signes d'excitation, légers débattements, possibilité ou non d'intubation moins de 60 secondes après la fin de l'injection
- **score 3** : hyperkinésie, signes évidents d'excitation, vocalises, défécation et émission d'urine, impossibilité d'intubation.

Muir constate qu'il n'existe pas de différence significative dans la rapidité d'induction et la dose administrée.

Après une dose unique, la durée de narcose est voisine de 15 minutes. Cet effet de courte durée permet d'établir l'alphaxalone comme indiqué pour la réalisation d'une induction de narcose chez le chien et le chat.

Cependant, les caractéristiques pharmacocinétiques de ce médicament permettent aussi de considérer l'alphaxalone comme indiqué pour l'entretien d'une narcose de plus longue durée par la technique des bolus répétés ou de la perfusion continue. Bien qu'il n'existe encore que des données parcellaires à ce sujet, un protocole d'utilisation de l'alphaxalone en perfusion continue a été proposé par divers auteurs :

La dilution de 8 mg d'alphaxalone dans 92 mL de NaCl 0,9% permet d'obtenir une solution stable qui sera utilisée pour l'intraveineuse continue. La maintenance anesthésique pour un chien utilisant ce protocole est de 6 à 7 mg/kg/h.

3.5.3. Les effets analgésiques de l'alphaxalone

Les neurones de la couche V reçoivent des afférences de toutes les catégories de fibres. Ces neurones nociceptifs non spécifiques, appelés aussi « neurones convergents », peuvent véhiculer à la fois des stimuli douloureux et non douloureux. Ils sont localisés dans les couches profondes (V). Les neurones convergents transportent les informations venant de champs récepteurs cutané, viscéral, et/ou musculaire. (29)

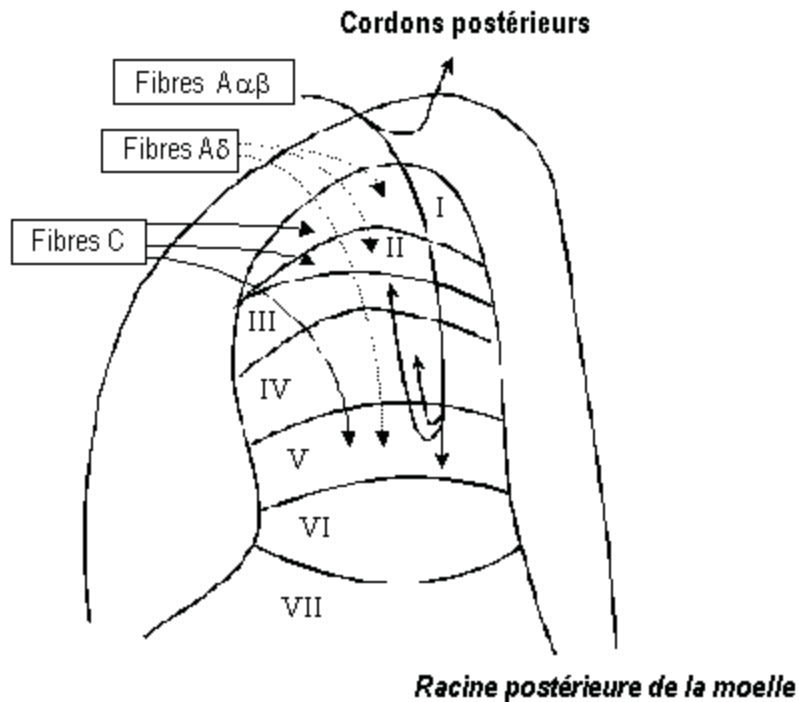


Figure 6 : Entrée des afférences douloureuses dans la corne postérieure de la moelle épinière (Muir)

Des études réalisées chez le rat démontrent qu'il existe une activité analgésique de l'alphaxalone mais que celle-ci serait dose et temps dépendant (30). De plus, l'action agoniste GABA explique que l'analgésie observée concerne plus les douleurs neuropathiques et moins les douleurs aiguës par excès de nociception. (31), (32)

En pratique, l'administration d'alphaxalone ne permet pas d'assurer une analgésie peropératoire suffisante notamment lors de chirurgies très douloureuses. La protection viscérale est souvent insuffisante et doit être assurée par l'utilisation conjointe de substances analgésiques d'action centrale telles que les morphiniques. (33)

3.5.4. Les effets de myorésolution de l'alphaxalone

Le relâchement musculaire induit par l'administration d'alphaxalone apparaît rapidement et de façon assez intense. D'un point de vue pratique, cette myorésolution facilite la réalisation d'une intubation endotrachéale du fait de l'intense relâchement de la musculature cervicale. (8) (17) De plus, il apparaît que la perte du réflexe laryngé à 5 mg/kg dure plus de 10 minutes. La disparition de ce réflexe, outre le fait qu'elle facilite un peu plus l'intubation endotrachéale, permet aussi de limiter les risques de iatrogénie (spasme laryngé) parfois observés au moment de la sécurisation des voies aériennes supérieures des carnivores domestiques.

3.5.5. Qualité du réveil

La durée du retour à un décubitus sternal et à des mouvements de tête coordonnés est dose dépendante. En moyenne, pour une anesthésie réalisée avec 5 mg/kg d'alphaxalone ce délai varie entre 51 et 59 minutes.

3.5.6. Prémédication et associations

Le recours à une anesthésie balancée permet classiquement de diminuer les doses de chacun des médicaments utilisés et donc de diminuer les effets indésirables dose-dépendants de chacun d'entre eux. Bien qu'il n'existe encore que peu de données dans la littérature vétérinaire, il semble que l'alphaxalone puisse, dans le cadre de la réalisation d'une anesthésie générale, être combiné à diverses classes médicamenteuses, parmi lesquelles on peut citer :

- les neuroleptiques comme l'acépromazine qui présentent une synergie d'action avec l'alphaxalone et qui permettent de diminuer les doses requises pour obtenir une induction de narcose satisfaisante.

Concernant, l'association de l'alphaxalone avec une benzodiazépine, diverses données parcellaires non publiées issues du laboratoire sembleraient indiquer l'existence de réveil agité et de convulsions. Bien que mal comprises, ces observations sont à l'origine d'une recommandation de prudence de la part du laboratoire.

- les analgésiques morphiniques qui permettent au clinicien d'obtenir une analgésie peropératoire de bonne qualité et ainsi de réduire les besoins de narcose.

De même, l'association avec des barbituriques peut provoquer une forte dépression respiratoire et cardiovasculaire allant jusqu'à la mort et n'apparaît pas conseillée sans précautions spécifiques. (21)

3.6 Effets indésirables

3.6.1. Cardiovasculaires

L'alphaxalone induit une diminution légère dose dépendante de la pression artérielle avec une augmentation connexe de la fréquence cardiaque.

L'étude de Muir W. en 2008 permet de confirmer l'existence d'une tachycardie transitoire notamment pour les doses de 6 et 20 mg/kg.

Temps (min)	-5	1	5	10	15	30	60
Doses							
2mg/kg	120 ± 21	155 ± 18	143 ± 17				
6mg/kg	112 ± 28	158 ± 33	150 ± 20	144 ± 18	137 ± 22	128 ± 38	
10mg/kg	128 ± 33	162 ± 16	131 ± 9	139 ± 19	134 ± 12	128 ± 15	128 ± 28

Tableau 2 : Fréquences Cardiaques au cours du temps chez le chien ayant reçu de l'alphaxalone Muir W. (18)

La pression artérielle systolique chute. Les animaux présentent une hypotension à partir d'une dose administrée de 20 mg/kg. Parallèlement, la pression artérielle pulmonaire reste diminuée à cette même dose pendant environ une heure. (18)

Certaines études tendent à montrer que la baisse de pression artérielle ne résulte pas d'une vasodilatation et d'une inotropie négative aussi intenses que celles observées avec le propofol. Cependant, diverses observations rapportées lors de congrès, mais non encore publiées, semblent indiquer notamment chez le chien l'existence de fréquente tachyarythmie lors de l'induction intraveineuse de narcose avec l'alphaxalone.

Aux doses supra thérapeutiques, l'alphaxalone provoque une diminution significative de l'index cardiaque dont les raisons restent pharmacologiquement encore indéterminées.

3.6.2. Respiratoires

L'étude menée par Muir W. permet de constater que l'administration d'alphaxalone entraîne une diminution significative de la fréquence respiratoire et du volume minute sans modification du volume courant.

Des épisodes d'apnée de durée variable sont rapportés notamment lors d'induction intraveineuse rapide de la narcose, mais restent toutes réversibles après établissement transitoire d'une ventilation en pression positive.

Ces détresses respiratoires initiales de morbidité réduites aux doses thérapeutiques et apparaissent sévères à doses plus élevées-. (18)

Doses	2 mg/kg	6 mg/kg	20 mg/kg
Durées d'apnée (min)	0,5 ± 0,0	0,7 ± 0,3	1,0 ± 0,7

Tableau 3 : Durée de l'apnée chez des chiens induits à différentes doses d'alphaxalone (34)

Ce phénomène d'apnée à l'induction explique les recommandations d'administration lente lors de l'induction. Les intraveineuses d'alphaxalone doivent être réalisées sur plus 1 minute afin de permettre une induction douce sans apparition d'un effet de sidération des centres respiratoires. Une élévation rapide et forte des concentrations dans le cerveau est à l'origine d'une apnée. (8) (17) (18)

L'ensemble des données actuellement disponibles confirme le fait que la dépression respiratoire observée avec l'alphaxalone est un effet indésirable plus marqué à l'induction. Il est à l'origine d'un phénomène d'acidose résultant de l'augmentation de la PaCO₂ qui apparaît plus intense aux doses supra thérapeutiques.

La saturation de l'hémoglobine en oxygène tend aussi à diminuer lors de l'induction. Cette constatation explique la recommandation d'oxygénation constante des animaux recevant de l'alphaxalone. Cette réduction de saturation apparaît réversible et ne semblerait avoir de répercussions morbides que lors de doses supra thérapeutiques.

3.6.3. Divers

L'alphaxalone induit une diminution significative de la pression intra-orbitaire. Cet effet indésirable lors de la réalisation d'un examen tonométrique apparaît comme un effet clinique utile lors de la réalisation d'une chirurgie intraoculaire.

3.7 Données de toxicologie

L'hydroxypropyl-β-cyclodextrine a une dose létale chez le chien supérieure à 5000 mg/kg. (38)

Une étude menée sur l'Alfaxan® en 2004 a étudié l'influence de cette molécule administrée à différentes doses. (34) Les animaux ont été anesthésiés avec des doses allant jusqu'à 5 fois la dose thérapeutique. L'ensemble des paramètres hématologiques étudiés, pendant et 48h après l'anesthésie, ont variés dans les intervalles de valeurs usuelles et aucun incident anesthésique n'a été rapporté.

Aucun effet tératogène n'a été rapporté chez le rat ou le lapin mais existence d'un passage transplacentaire est à l'origine d'une recommandation de prudence de la part du laboratoire.

Il n'existe pas encore de données publiées concernant l'espèce canine, cependant les études menées par le laboratoire commercialisant l'Alfaxan® démontrent que chez la rate, la souris et la lapine, l'alphaxalone n'a pas d'effets délétères sur la gestation et sur les performances de reproduction de leur descendance. (26)

IV. Influences des facteurs extrinsèques à l'anesthésie

4.1 Voie d'administration

La voie intraveineuse reste la voie d'administration de choix pour l'alphaxalone. Au-delà de la maîtrise des effets recherchés et indésirables, la voie intraveineuse permet de réaliser par perfusion ou bolus un ajustement des doses à l'intensité de la narcose recherchée.

La voie intramusculaire, bien que ne faisant pas partie de l'AMM européenne peut être envisagée (AMM australienne) à condition de ne rechercher qu'une tranquillisation et non une narcose. En effet, il semble que les taux plasmatiques observés après une administration intramusculaire ne soient pas suffisants pour obtenir une narcose.

4.2 Facteurs individuels (gestation, âge, espèce, stade ASA)

En raison de l'AMM encore récente de l'alphaxalone peu de données s'avèrent disponibles concernant les facteurs individuels susceptibles de modifier les effets observés. Seul, le passage transplacentaire est actuellement identifié comme à l'origine d'une prolongation de la narcose chez la femelle gravide.

Ainsi, il apparaît que l'alphaxalone dans sa version galénique actuelle reste un médicament de la narcose récent et encore assez mal connu tant dans ses effets recherchés qu'indésirables. Etabli notamment dans des indications de narcose de courte durée, l'alphaxalone pourrait être notamment indiqué chez des chiens peu compliants aux soins et nécessitant la réalisation de prélèvement sanguin à visée diagnostique ou pronostique. Cependant, pour évaluer la pertinence de cette indication, il est indispensable de vérifier les conséquences potentielles d'une telle anesthésie sur les principaux marqueurs biochimiques d'intérêt vétérinaire.

DEUXIEME PARTIE : ETUDE CLINIQUE DE L'ALPHAXALONE DANS L'ANESTHESIE DU CHIEN

I. Problématique et objectifs

En médecine vétérinaire, il est parfois nécessaire d'envisager directement ou indirectement une anesthésie pour réaliser des prélèvements sanguins.

Ainsi, il est parfois nécessaire de :

- tranquilliser/anesthésier des animaux rétifs pour effectuer sans risques pour l'opérateur et l'animal des examens complémentaires et des prélèvements biologiques
- réaliser au décours d'une anesthésie générale des prélèvements sanguins à visée diagnostique.

Cependant, à notre connaissance, les effets d'une anesthésie réalisée avec de l'alphaxalone sur les résultats d'analyse biochimique du sang n'ont jamais été évalués chez le chien.

L'objectif de cette étude prospective est donc d'établir s'il existe ou non des différences significatives induites par une anesthésie générale à base d'alphaxalone sur les valeurs des principaux analytes sanguins (hématologie, biochimie).

Il s'agit d'une étude prospective, les résultats seront analysés de façon à ce que chaque animal soit sa propre base de référence.

II. Matériels et méthodes

L'étude a été conçue et réalisée selon une approche prospective longitudinale. Conformément au protocole d'étude établi, chaque chien inclus est son propre témoin.

La période d'inclusion s'est déroulée au sein du CHUV de l'école nationale vétérinaire de Toulouse entre Juin 2009 et Juin 2010. Coordonnée par le Professeur Patrick Verwaerde, la phase animale de cette étude a été réalisée par Mlle Séverine Dumond (ASV diplômée) et Juliette Marel (Vétérinaire doctorant).

3.1 Présentation de la population étudiée

Les animaux inclus dans cette étude ont fait l'objet d'une sélection conforme aux critères d'inclusion et d'exclusion pré-établis.

Critères d'inclusion:

- Chiens mâle ou femelle à jeun depuis au moins 12 heures, âgés de plus de 6 mois et de moins de 10 ans,
- Chiens présentés à la consultation du CHUV de l'école nationale vétérinaire de Toulouse et nécessitant la réalisation d'un examen complémentaire sous anesthésie générale.
- Chiens dont l'état de santé est associé à un statut ASA inférieur ou égal à II

Critères de non inclusion:

- un indice corporel inférieur à 3 ou supérieur à 5
- tout animal présentant un stade supérieur ou égal à ASA III
- une anémie sévère suspectée ou avérée
- une déshydratation sévère suspectée
- une hypotension suspectée ou avérée
- un trouble sévère de l'hémostase suspecté ou avéré
- un antécédent d'effet indésirable d'un des principes actifs utilisés dans l'étude

Cette étude a inclus 10 chiens conformes à ces critères et qui ont fait l'objet de la procédure expérimentale pré-établie.

3.2 Procédure expérimentale utilisée chez les chiens inclus

Dans les deux heures qui précèdent l'induction de la narcose, les animaux inclus ont fait l'objet d'un examen clinique complet permettant de documenter les feuilles d'examen pré-anesthésique de l'ENVT (cf. Annexe II). Ensuite les animaux ont été préparés pour pouvoir être anesthésiés et prélevés conformément aux bonnes pratiques cliniques de l'établissement (tonte et désinfection cutanée en regard d'une veine jugulaire et d'une veine céphalique craniale, pose d'un cathéter périphérique sur la veine céphalique, sécurisation de la voie veineuse permanente, ...).

Préalablement à la réalisation de l'examen complémentaire sous anesthésie générale, l'animal est prémédiqué par voie intraveineuse avec de l'acépromazine à 0,05 mg/kg (VétranquilND). Un délai de 20 minutes est respecté avant la réalisation de l'induction de la narcose au moyen d'une injection intraveineuse d'alphaxalone (AlfaxanND) selon le principe

de titration (administration jusqu'à obtention des effets recherchés). Enfin, les voies aériennes supérieures sont sécurisées par l'intubation endotrachéale et l'apport continu d'oxygène. L'entretien de la narcose par l'administration par voie respiratoire d'isoflurane est initié après 5 à 10 minutes après l'induction intraveineuse. Dans le même temps, l'analgésie requise est établie par l'administration intraveineuse de morphine à 0,1 mg/kg.

Des prélèvements sanguins (voir schéma expérimental ci-dessous) ont été réitérés respectivement, avant l'administration d'acépromazine (T1), 15 minutes après cette même prémédication (T2) et enfin 5 minutes après l'obtention d'une narcose suffisante et l'intubation de l'animal (T3). Tous les prélèvements ont été réalisés au moyen d'un dispositif aspiratif sous vide (vacutenair) avec des tubes contenant de l'héparinate de lithium.

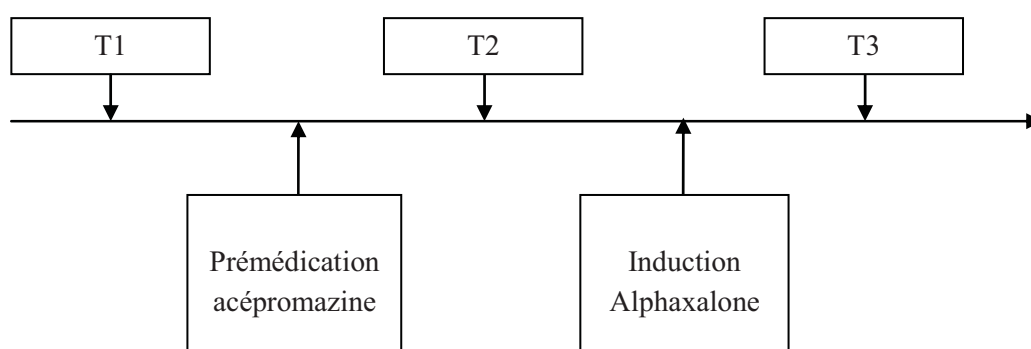


Figure 7 : Réalisation des prélèvements sanguins à T1, T2 et T3

3.3 Analyses statistiques des données

Les données sont présentées sous la forme moyenne \pm écartype. Le seuil de signification retenu pour l'ensemble de l'étude est $p < 0.05$. En deçà de cette valeur les différences ont été considérées comme significatives.

Après vérification de l'homosédasticité, les comparaisons ont été réalisées au moyen d'un test de student unilatéral pour séries appariées. Dans le cas de la non homogénéité des variances, les comparaisons ont été réalisées au moyen d'un test de Wilcoxon.

Les tests statistiques ont tous été effectués à l'aide du logiciel Excel et GraphPad Prism® 2007 (GraphPad software Inc).

Aucune valeur aberrante n'a été détectée (écart de plus de deux fois l'écartype de la population) pour les analytes sanguins étudiés dans la distribution des différences entre les résultats avant, après sédation à l'ACP et après induction à l'alphaxalone.

3.4 Paramètres biologiques étudiés

2.6.1. *Microhématocrite*

Une mesure du microhématocrite a été réalisée à chaque temps pour tous les chiens. Cette mesure a été effectuée (rapport volume globulaire/ volume plasmatique) par lecture visuelle après une centrifugation de 10min d'un tube microcapillaire (Haematokrit 210, Hettich Zentrifugen, Tuttlingen, Germany) contenant un volume variable de sang hépariné.

2.6.2. *Analytes biochimiques:*

Na, K Cl, PT, Albumine, Urée, Créatinine, ALAT, CK, PAL, Glucose.

Les tubes héparinés ont été immédiatement placés sur agitateur (SpecifiMix II Drew, Oxford, USA), pendant au moins 20 minutes avant analyse. Un délai maximum de 15 minutes a été respecté entre la fin des prélèvements et la centrifugation des tubes (5 minutes à 4000 tours/minutes ; Rotofix 32A, Heitich Zentifugen, Tuttigen, Germany). Les plasmas ont été ensuite collectés séparément dans des tubes Eppendorfs identifiés. Toutes les analyses suivantes ont été effectuées dans un délai maximal d'une heure après la fin des prises de sang :

- Biochimie plasmatique (Vitros 250®) Na, K, Cl, Glucose, Urée, Créatinine, Protéines totales, Albumine, ALAT, CK, PAL ; l'analyseur utilisant des supports de réactifs unitaires stabilisés (OrthoClinical Diagnostics, Issy les Moulineaux, France).
- Calcul de l'osmolalité : selon la formule consacrée : $[(\text{natrémie (mmol/l)} + \text{kaliémie (mmol/l)}) \times 2 + \text{urée (g/l)} \times 16,5 + \text{glycémie (g/l)} \times 5,5]$. Les valeurs usuelles de l'espèce canine sont comprises entre 310 et 320 mOsm/L.

Les recommandations des fabricants des différents appareils utilisés et le contrôle de qualité ont été respectés pour la réalisation de ces analyses.

III. Résultats

3.1 Description générale de la population de l'étude

L'échantillon de population de chiens inclus dans notre étude était composé comme suit :

- race : 10 chiens de 10 races différentes (cane corso, american staffordshire, terre neuve, rottweiler, setter anglais, boxer, pinscher nain)
- sexe : 6 mâles, dont 4 non castrés et 2 castrés ; 4 femelles, dont 1 non stérilisée et 3 stérilisées.
- statut sanitaire : 6 chiens anesthésiés pour des examens complémentaires sans relation avec une affection connue, et 1 chienne anesthésiée pour une chirurgie de convenance (ovariectomie)
- âge : l'âge médian des chiens était de 3 ans, avec des valeurs comprises entre 6 mois et 10 ans. La majorité des chiens avait entre 1 et 4 ans.
- poids : le poids médian des chiens était de 30,9 kg, avec des valeurs comprises entre 2,9 et 54 kg.

3.2 Observations cliniques

D'un point de vue clinique, nous avons pu observer que :

- l'induction de la narcose au moyen de l'alphaxalone après une prémédication à l'acépromazine a été obtenue par titration, avec une dose toujours inférieure à la dose recommandée (5 mg/kg) par le laboratoire.
- Un chien inclus dans cette étude a présenté un réveil de mauvaise qualité avec « pédalage ».
- Aucun chien n'a présenté de tachyarythmie ou de vomissement à l'induction.

3.3 Effets de l'acépromazine sur les analytes sanguins

La comparaison des résultats obtenus entre T1 et T2 permet de déterminer l'existence d'une influence de l'acépromazine en prémédication sur les valeurs biochimiques.

	T1	T2	Variation moyenne	
Sodium (mmol/L)	150,10 ± 2,88	150,10 ± 4,07	-0,01%	
Potassium (mmol/L)	3,95 ± 0,27	3,82 ± 0,26	-3,21%	
Chlorure (mmol/L)	116,70 ± 2,95	117,90 ± 4,18	1,01%	
Hématocrite (%)	46,90 ± 3,67	39,00 ± 3,97	-16,87%	p=0,003
Albumine (g/L)	34,17 ± 3,36	32,04 ± 3,02	-6,17%	
Protéines totales (g/L)	65,51 ± 5,69	61,25 ± 6,43	-6,63%	
ALAT (U/L)	41,90 ± 24,64	37,00 ± 25,14	-14,83%	
PAL (U/L)	81,10 ± 45,43	72,90 ± 42,91	-10,97%	
CK (U/L)	781,20 ± 2093,13	1095,50 ± 2804,27	86,43%	
Glucose (mmol/L)	5,32 ± 0,69	5,71 ± 0,54	8,37%	
Urée (mmol/L)	4,72 ± 0,94	5,00 ± 1,09	5,88%	
Créat (μmol/L)	97,32 ± 20,59	95,45 ± 21,18	-2,02%	
Osmolarité Calculée (%)	318,14 ± 5,87	318,55 ± 8,41	0,12%	

Tableau 4 : Influence de l'acépromazine sur les analytes étudiés

Parmi, les analytes étudiés aucune variation significative n'a été observée sur les valeurs des paramètres biochimiques (Na, K, Cl, Protéines totales, Albumine, Créatinine Kinase, PAL, ALAT, Urée, Créatinine, Glucose).

Par contre, l'acépromazine induit une diminution significative de l'hématocrite. Dans notre étude, l'administration chez le chien d'ACP diminue de 20% ± 3% les valeurs de l'hématocrite.

3.4 Effets de l'alphaxalone sur les données sanguines

La confrontation des valeurs obtenues en T2-T3 permet d'observer les éventuels effets de l'alphaxalone sur la valeur des paramètres biochimiques des chiens. Aucun des paramètres étudiés de subir de variation significative après injection d'alphaxalone.

	T2	T3	Variation moyenne
Sodium (mmol/L)	150,10 ± 4,07	149,90 ± 3,45	-0,12%
Potassium (mmol/L)	3,82 ± 0,26	3,63 ± 0,31	-4,78%
Chlorure (mmol/L)	117,90 ± 4,18	119,50 ± 3,78	1,37%
Hématocrite (%)	39,00 ± 3,97	37,20 ± 4,47	-4,62%
Albumine (g/L)	32,04 ± 3,02	29,71 ± 3,24	-7,32%
Protéines totales (g/L)	61,25 ± 6,43	57,13 ± 6,15	-6,69%
ALAT (U/L)	37,00 ± 25,14	37,00 ± 25,17	2,08%
PAL (U/L)	72,90 ± 42,91	69,50 ± 38,24	-2,50%
CK (U/L)	1095,50 ± 2804,27	1011,60 ± 2668,65	-3,64%
Glucose (mmol/L)	5,71 ± 0,54	5,78 ± 0,38	1,60%
Urée (mmol/L)	5,00 ± 1,09	4,93 ± 1,07	-1,39%
Créat (μmol/L)	95,45 ± 21,18	90,25 ± 20,50	-5,44%
Osmolarité Calculée (%)	318,55 ± 8,41	317,77 ± 7,49	-0,24%

Tableau 5: Influence de l'alphaxalone sur les analytes étudiés

L'alphaxalone ne modifie donc pas significativement les paramètres testés dans cette étude.

3.5 Effets de la combinaison ACP/alphaxalone sur les données sanguines

La comparaison des résultats obtenus entre T1 et T3 permet de déterminer l'existence d'une influence de l'association acépromazine/alphaxalone sur les valeurs biochimiques.

	T1	T3	Valeur moyenne	
Sodium (mmol/L)	150,10 ± 2,88	149,90 ± 3,45	-0,14%	
Potassium (mmol/L)	3,95 ± 0,27	3,63 ± 0,31	-7,84%	
Chlorure (mmol/L)	116,70 ± 2,95	119,50 ± 3,78	2,39%	
Hématocrite (%)	46,90 ± 3,67	37,20 ± 4,47	-20,76%	P=0,001
Albumine (g/L)	34,17 ± 3,36	29,71 ± 3,24	-13,01%	P=0,010
Protéines totales (g/L)	65,51 ± 5,69	57,13 ± 6,15	-12,89%	P=0,043
ALAT (U/L)	41,90 ± 24,64	37,00 ± 25,17	-13,59%	
PAL (U/L)	81,10 ± 45,43	69,50 ± 38,24	-14,10%	
CK (U/L)	781,20 ± 2093,13	1011,60 ± 2668,65	23,65%	
Glucose (mmol/L)	5,32 ± 0,69	5,78 ± 0,38	10,03%	
Urée (mmol/L)	4,72 ± 0,94	4,93 ± 1,07	4,45%	
Créat (μmol/L)	97,32 ± 20,59	90,25 ± 20,50	-7,47%	
Osmolarité Calculée (%)	318,14 ± 5,87	317,77 ± 7,49	-0,12%	

Tableau 6 : Influence de la combinaison ACP/alphaxalone sur les analytes étudiés

La comparaison des résultats obtenus en T1-T3 permet de légitimer l'existence d'un effet de l'association acépromazine/alphaxalone sur la valeur de divers analytes:

Protéine Totale, Albumine, Hématocrite.

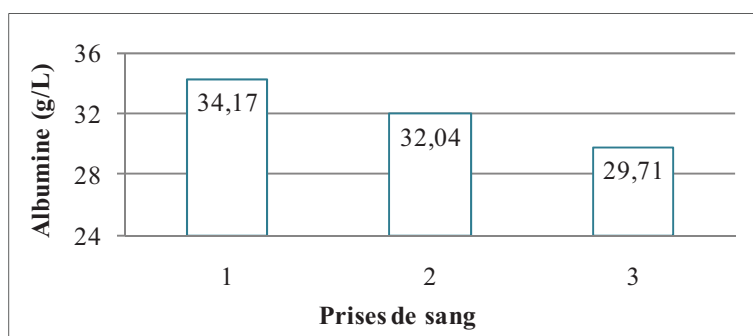


Figure 8 : Variation de l'albumine après administration d'ACP (2), puis d'Alphaxalone (3)

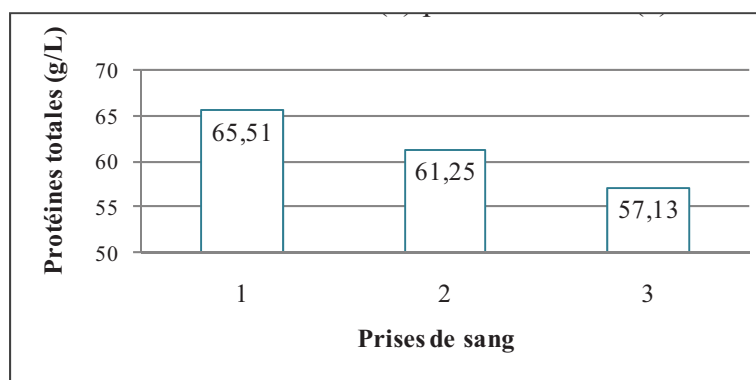


Figure 9 : Variation de l'albumine après administration d'ACP (2), puis d'Alphaxalone (3)

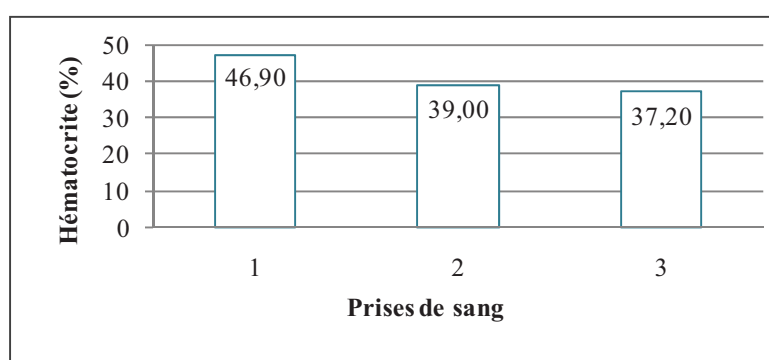


Figure 10 : Variation de l'hématocrite après administration d'ACP (2), puis d'Alphaxalone (3)

L'effet de l'association est souligné par l'absence d'influence significative de l'acépromazine seule alors qu'il existe une variation significative de la combinaison acépromazine/alphaxalone. Ainsi, On observe respectivement une diminution de la protéinémie totale et de l'albuminémie de $13\% \pm 4\%$ et $13\% \pm 5\%$.

En raison, de l'influence de l'albuminémie sur la protéinémie totale, il est possible d'envisager que cette diminution du même ordre de ces deux valeurs soit essentiellement expliquée par la diminution de l'albuminémie et non de la globulinémie.

Concernant, la réduction d'hématocrite observée après l'association acépromazine/alphaxalone ($21\% \pm 6\%$), il est possible de n'envisager que la stricte influence de l'acépromazine. En effet, il ne semble exister d'influence supplémentaire de l'association par rapport à l'acépromazine seule.

IV. Discussion des résultats et perspectives

Cette étude bien que réalisée sur un petit effectif d'animaux tend à indiquer que l'alphaxalone seul ne modifie pas significativement les résultats des principaux analytes utilisés en médecine vétérinaire, à visée diagnostique ou pronostique. Sur la base de ce constat original, il apparaît que l'alphaxalone peut ainsi être indiqué comme médicament de l'induction anesthésique lorsque le clinicien souhaite réaliser des prélèvements sanguins sur un animal rétif par exemple.

Dans cette étude, nous avons fait le choix de recourir à une prémédication préalable à l'induction de la narcose. Les raisons de ce choix expérimental reposent non seulement sur les recommandations établies par le laboratoire mais aussi sur le respect des bonnes pratiques d'anesthésie générale. Au-delà de l'intérêt clinique de ce phénothiazique couramment utilisé en médecine vétérinaire et pour l'amélioration des qualités de l'induction, de la maintenance et du réveil, il apparaît que l'acépromazine seule ou associée est plus que l'alphaxalone seule impliquée dans des variations significatives des résultats. Cette observation est cliniquement essentielle car elle permet de limiter la survenue de possibles erreurs d'interprétation lors de l'administration d'une combinaison acépromazine/alphaxalone. Ainsi, il importe que le clinicien sache que les valeurs d'hématocrite, de protéinémie totale et d'albuminémie sont significativement diminuées sans causes physiopathologiques évidentes.

L'origine des ces variations pharmacologiquement induites restent mal comprises. Il est cependant possible de formuler diverses hypothèses.

Concernant la diminution de l'hématocrite, une hypovolémie relative (vasodilatation induite notamment par l'acépromazine) peut d'emblée être exclue. En effet, les mécanismes compensateurs se traduisant par un passage d'eau et d'ions du secteur interstitiel au secteur vasculaire ne se mettent en place qu'après plusieurs heures et ne peuvent donc être explicatifs de cette observation (tous les prélèvements ont été réalisés dans un intervalle de temps inférieur à 45 minutes).

Une autre hypothèse repose sur l'existence d'une splénodilatation à l'origine d'une séquestration des éléments figurés du sang. Etayée par diverses observations maintenant anciennes cette splénodilatation induite par l'acépromazine pourrait effectivement expliquer à la fois les observations faites sur l'albuminémie, les protéines totales et l'hématocrite. Comme nous l'avons évoqué plus haut, il apparaît que ce phénomène de splénodilatation et de séquestration des éléments figurés soit plus imputable à l'acépromazine qu'à la seule alphaxalone. Ce constat est corroboré par des données de la littérature qui mettent en évidence chez le chien traité à l'acépromazine l'existence d'une diminution significative de l'Hb, de l'Ht, des GR, des GB (surtout lymphocytes, voire GNN) et même de la numération plaquettaire. (35) Un effet similaire, imputable à une splénodilatation a été également rapporté chez le cheval avec une diminution de 50% de l'hématocrite après administration d'ACP.

Finalement, quelles que soient la cause de ces perturbations, il convient de retenir que le protocole associant acépromazine/alphaxalone entraîne la diminution de l'hématocrite, de l'albumine et des protéines totales. Les résultats de ces analytes devront donc être interprétés avec prudence en cas d'utilisation de ce protocole pour réalisation de prélèvements sanguins.

Au-delà de ces hypothèses, il apparaît que les variations induites par l'association acépromazine/alphaxalone notamment sur l'albuminémie sont de l'ordre de 13 % chez des chiens en bonne santé (ASA <II). Il convient de s'interroger sur les conséquences morbides potentielles d'une telle variation chez un animal malade ou débilité dont l'albuminémie ne serait pas dans les valeurs usuelles. En l'état des connaissances et de nos observations, il apparaît raisonnable d'émettre une précaution d'utilisation de cette association anesthésique chez des animaux en état d'hypoalbuminémie sévère.

Bien qu'il soit nécessaire de vérifier l'existence de telle variation chez des chiens malades, pour les mêmes raisons, il importe aussi d'attirer l'attention du clinicien sur une aggravation possible de l'état clinique d'un chien anémié.

Ainsi, il apparaît pertinent d'envisager dans un futur proche d'élargir ce travail à l'étude de l'influence de l'alphaxalone seule ou en association sur les paramètres biochimiques et hématologiques d'animaux souffrant de diverses affections.

Conclusion

L'alphaxalone, par ses propriétés pharmacologiques originales, apparaît dans la littérature comme un agent d'induction apportant une grande sécurité d'utilisation sur les plans cardiovasculaire et respiratoire. Si nos observations confirment cette sécurité d'utilisation, notre étude attire l'attention sur de possibles répercussions morbides de l'association acépromazine/alphaxalone. Il est cependant intéressant de constater que l'alphaxalone seul ne semble pas modifier significativement les paramètres biochimiques étudiés.

Si quelques hypothèses peuvent être avancées pour tenter d'expliquer les causes de ces variations, il importe surtout de garder à l'esprit leur existence lors de l'interprétation de résultats d'analyses.

A terme, cette étude pourrait être élargie aux possibles effets induits par d'autres molécules associées à l'alphaxalone ainsi qu'à un groupe d'animaux incluant des animaux de statut ASA variés.

Direction de l'Enseignement et de la Vie Universitaire

AGREMENT ADMINISTRATIF

Je soussigné, A. MILON, Directeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, certifie que
Mlle MAREL Juliette, Marie
a été admis(e) sur concours en : 2004
a obtenu son certificat de fin de scolarité le : 11 juin 2009
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

Je soussigné, Patrick VERWAERDE, Maître de Conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
autorise la soutenance de la thèse de :

Mlle MAREL Juliette, Marie

intitulée :

« Utilisation de l'alfaxalone en anesthésie chez le chien. »

**Le Professeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Docteur Patrick VERWAERDE**



**Vu :
Le Directeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Professeur Alain MILON**



**Vu :
Le Président de la thèse :
Professeur Christian VIRENQUE**



**Vu le : 30 AOUT 2010
Le Président
de l'Université Paul Sabatier
Professeur Gilles FOURTANIER**



Enseignement agricole
Formations grandeur nature



Bibliographie

1. **Flecknell, P. A.** *Laboratory Animal Anesthesia*. . London : Academic Press., 1987. p. 156 pp.
2. *The potential use of cyclodextrins in parenteral formulations.* **Brewster ME, Simpkins JW, Hora MS, Stern WC, Bodor N.** 1989, J Parenter Sci Technol , Vol. 43, pp. 231-240.
3. *Development of a non-surfactant formulation for alfaxalone through the use of chemically-modified cyclodextrins.* **Brewster ME, Estes KS, Bodor N.** 1989, J Parenter Sci Technol. , Vol. 43, pp. 262-5.
4. *The mechanism of steroid anaesthetic (alfaxalone) block of acetylcholine-induced ionic currents.* **Gillo, B. and Lass, Y.** 1984, Br. J. Pharmac., Vol. 82, pp. 783-789.
5. *General anesthetic and other pharmacological properties of a soluble steroid, 21-hydroxypregnanedione sodium succinate.* **S. Y. P'An, J. F. Gardocki, D. E. Hutcheon, H. Rudel, M. J. Kodet and G. D. Laubach.** 4, 1995, Vol. 115, pp. 432 - 441.
6. *Alfaxalone: Effect of Temperature on Complexation with 2-Hydroxypropyl- β -cyclodextrin* . **Jef Speeters, Peter Neeskens, Jef Adriaensen and Marcus Brewster.** 2002, Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, Vol. 44, pp. 75-77.
7. *New therapeutic horizon choosing a new drug for inducing anaesthesia: propofol or alfaxalone.* **Pearson M, Best P, Patten B.** Symposium, 2003, American Academy of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, pp. 66-69.
8. *Comparison of the anesthetic efficacy and cardiopulmonary effects of continuous rate infusion of alfaxalone 2 hydroxypropyl cyclodextrin and propofol in dog.* **Ambros B, Duke Navakovski, Paloske KS.** 2008, AJVR, Vol. 11, pp. 1391 - 1398.
9. *The Ph. Eur. Monograph for Alfaxalone.* **Mr C.T. Goddard, Dr R.L. Horder, Dr L. Tsang, Mrs J. Turnbull, Professor E. Williamson.** 1996, The British Pharmacopoeia, Vol. 7.
10. *2-Hydroxypropyl-beta-cyclodextrin (HP-beta-CD): a toxicology review.* **Gould S, Scott RC.** 2005, Food Chem Toxicol. , Vol. 43, pp. 1451-9.
11. *Bile acid and sterol solubilization in 2-hydroxypropyl-beta- cyclodextrin.* **J De Caprio, J Yun, NB Javitt.** 1992 : s.n., Journal of Lipid Research, Vol. 33, pp. 441-443.
12. *Cyclodextrins.* **Stella VJ, He Q.** 2008, Toxicol Pathol. , Vol. 36, pp. 30-42.
13. *Parenteral hydroxypropyl cyclodextrins: intravenous and intracerebral administration of lipophiles.* **Pitha J, Gerloczy A, Olivi A.** 1994, J Pharm Sci., Vol. 83, pp. 833-7.
14. *Cyclodextrins in drug carrier systems.* **Uekama K, Otagiri M.** 1987, Critical review of Therapeutic Drug Carrier Systems, Vol. 3, p. 1.
15. *Janssen Reported data.*
16. *Pharmaceutical applications of 2-hydroxypropyl-B-cyclodextrins, Preclinical Studies and Current Critical Developments. New trends in Cyclodextrins and derivatives.* **Mesens JL, Putteman P, Verheyen P.** 1991, Editions de santé, pp. 371-407.

17. *Plasma pharmacokinetics of alfaxalone in dogs after an intravenous bolus of Alfaxan CDRTU.* **Ferre PJ, Paloske K, Whittem T, Ranasinghe MG, Li Q, Lefebvre HP.** 33, Vet Anaesth Analg, pp. 229-239.
18. *Cardiopulmonary and anesthetic effects of clinical and supraclinical doses of alfaxalone in dogs.* **Muir W, Lerche P, Wiese A, Nelson L Paloske K, Whittem T.** 2008, Vet Anaesth Analg, Vol. 35, pp. 451-462.
19. *A single glycine residue at the entrance to the first membrane-spanning domain of the gamma-aminobutyric acid type A receptor $\beta 2$ subunit affects allosteric sensitivity to GABA and anesthetics.* **Carlson B.X, Engblom A.C, Kristiansen U, Schousboe A, Olsen R.W.** 57, 2000, Mol Pharmacol., pp. 474-484.
20. *A single amino acid of the human gamma-aminobutyric acid type A receptor gamma 2 subunit determines benzodiazepine efficacy.* **Mihic S.J, Whiting P.J, Klein R.L, Wafford K.A, Harris R.A.** 269, 1994, J. Biol. Chem., pp. 32768-32773.
21. *Neuroactive steroids induce GABAA receptor-mediated depolarizing postsynaptic potentials in hippocampal CA1 pyramidal cells of the rat.* **Burg M, Heinemann U, Schmitz D.** 10, 1998, Eur J Neurosci. , pp. 2880-2886.
22. *A neurosteroid anesthetic, alphaxalone, inhibits nicotinic acetylcholine receptors in cultured bovine adrenal chromaffin cells.* **Shiraishi M, Shibuya I, Minami K, Uezono Y, Okamoto T, Yanagihara N, Ueno S, Ueta Y, Shigematsu A.** 95, 2002, Vet. Anaesth. Analg., pp. 900-906.
23. *Glycine receptors : recent insights into their structural organization and functional diversity.* **Betz H, Laube B.** 97, 2006, J. Neurochem. , pp. 1600-1610.
24. *Allosteric modulation of glycine receptors is more efficacious for partial rather than full agonists.* **Biro T, Maksay G.** 44, 2004, Neurochem Int., pp. 521-527.
25. *Reversal of neuromuscular block. .* **Srivastava A, Hunter J.M.** 103, 2009, Br. J. Anaest., pp. 115-129.
26. *vetoquinol données laboratoire.*
27. *Althesin interaction with human plasma steroid binding globulins .* **D. Perrot, M. Pugeat, A. Bonneton, A. Mounier-Kuhn, J. Motin, M. G. Forest.** 1985, European Journal of Clinical Pharmacology, Vol. 29, pp. 181-185.
28. *Anaesthetic cardiovascular and respiratory effects of a new steroidal agent CT 1341 : a comparison with other intravenous anaesthetic drugs in the unrestrained cat.* **Child KJ, Currie JP, Dis B et al.** 1972, Br J Pharmacol, Vol. 46, pp. 189-200.
29. *Assessing pain in critically ill sedated patients by using a behavioral pain scale.* **al, Payen JF et.** 2001, Critical Care Med, Vol. 29, pp. 2258-63.
30. *Preemptive analgesic effects of steroid anesthesia with alphaxalone in the rat formalin test. Evidence for differential GABA(A) receptor modulation in persistent nociception.* **Gilron I, Coderre T.J.** 84, 1996, Anesthesiology., pp. 572-579.

31. *New evidence that both T-type calcium channels and GABAA channels are responsible for the potent peripheral analgesic effects of 5alpha-reduced neuroactive steroids.* **Pathirathna S, Brimelow B.C, Jagodic M.M.** 114, 2005, Pain, pp. 430-445.
32. *5alpha-reduced neuroactive steroids alleviate thermal and mechanical hyperalgesia in rats with neuropathic pain.* **Pathirathna S, Todorovic S.M, Covey D.F.** 117, 2005, Pain, pp. 326-329.
33. *Le CT 1341, nouvel agent anesthésique.* **Gauthier, Lafaye JP, Andres H, Masson J, Beley JP, Pinelli J, Dupeyron JP, Zimmer R.** 1972, Anesthésie Analgésie Réanimation, Vol. 29, pp. 419-537.
34. *Margin of safety of the anesthetic Alfaxan®-CDRTU in dogs at 0, 1, 3 and 5X the intravenous dose of 2 mg/kg.* **Schnell M, Weiss C, Heit M, Whittem T, Pasloke K.** 2004, ACVIM Proceeding.
35. *Acetylpromazine administration: its effects on canine haematology.* **LANG, S.M., EGLIN, R.M. and HENRY, A.C.** 1979, Veterinary Record, Vol. 105, pp. 397-398.
36. *Assessing pain in critically ill sedated patients by using a behavioral pain scale.* **al., Payen JF and.** 2001, Crit Care Med , Vol. 29, pp. 2258 - 63.
37. *Physiologie de la nociception.* **Guirimand F, Le Bars D.** 1996, Ann Fr Anesth Reanim, Vol. 15, pp. 1048 - 79.
38. *The effect of speed of injection on the potency of anaesthetic induction agents.* **Aveling W, Bradshaw AD, Crankshaw DP.** 1978, Anaesth Intensive Care, Vol. 6, pp. 116-119.
39. *The pharmacological properties in animals of CT 1341-a new steroid anaesthetic agent.* **Child KJ, Currie JP, Davis B, et al.** 1971, Br J Anaesth, Vol. 43, pp. 2-13.
40. *Effects of thiopentone, propofol, alphaxalone-alphadalone, ketamine and xylazine-ketamine on lower oesophageal sphincter pressure and barrier pressure in cats.* **Hashim MA, Waterman AE.** Vet Rec 1991, Vol. 129, pp. 137-139.
41. *The metabolism of steroid intravenous anaesthetic agents, and their modification by liver disease.* **JW, Sear.** University of Bristol : s.n., 1981, PhD thesis.
42. *Effects of certain i.v. anaesthetics on liver blood flow and hepatic consumption in the greyhound.* **Thomson IA, Fitch W, Hughes RL, Campbell D, Watson R.** 1986, Br J Anaesth, Vol. 58, pp. 69-80.
43. *Alfaxalone induction dose following administration of medetomidine and butorphanol in the dog.* **Kieren Maddern, Vicki J Adams, Nichole AT Hill, Elizabeth A Leece.** 2010, Vet Anaesth and Analgesia, Vol. 37, pp. 7-13.
44. *Clinical evaluation of Alfaxan-CD® as an intravenous anaesthetic in young cats.* **Zaki S, Ticehurst K.E, Miyaki Y.** 3, 2009, Australian Vet Journal, pp. 82-87.